

胆嚢胆汁組成からみた胃切除術後胆嚢結石症の成因に関する検討 - とくに胆汁酸のカルシウムイオン捕捉能に着目して

著者	本多 博
学位授与機関	Tohoku University
URL	http://hdl.handle.net/10097/54939

博士論文

胆嚢胆汁組成からみた胃切除術後
胆嚢結石症の成因に関する検討
—とくに胆汁酸のカルシウム
イオン捕捉能に着目して—

東北大学医学部第1外科

本多 博

①

博士論文

胆嚢胆汁組成からみた胃切除術後
胆嚢結石症の成因に関する検討
—とくに胆汁酸のカルシウム
イオン捕捉能に着目して—

東北大学医学部第1外科

本多 博

要 旨：色素胆石が多いとされる胃切除後胆石の成因を探るため、胃切除後胆嚢結石症例の胆嚢胆汁分析を行い、対照例および肝硬変症例と比較検討した。胃切除後胆石例、肝硬変症例では、胆汁酸やリン脂質濃度が低かったものの、イオン化カルシウム濃度には差を認めなかった。また胆汁酸分画では、G/T比は胃切除後例では4.8と高く、肝硬変例では1.9と低かった。また、胃切除後例の結石種類や再建術式間ではほとんど差を認めなかった。

次いで、臨床例の結果をふまえ、in vitroで胆汁酸およびレシチンを加えた人工胆汁溶液のCaイオン捕捉能を測定した。胆汁酸単独のCaイオン捕捉能は、グリシン抱合型>タウリン抱合型、di-hydroxy型>tri-hydroxy型であった。しかし、レシチンを加えた捕捉能は、tri-hydroxy型で上昇が大きく、グリシン・タウリン抱合型混合溶液では低下した。臨床例に則した胆汁酸+レシチン

混合溶液モデルの捕捉能は、G/T比の影響が少なく、主に低濃度では胆汁酸濃度に規定された。また、人工胆汁に遊離ビリルビンを加えた沈殿形成条件の検索では、高濃度の胆汁酸、あるいはタウリン抱合型やtri-hydroxy型胆汁酸でビリルビン捕捉能が大きく、沈殿が形成されにくかった。以上より、胃切除後色素胆石形成の因子として、総胆汁酸濃度や胆汁酸画分がイオン化Ca濃度より影響が大きいと考えられた。

索引用語：胃切除術後胆石、色素胆石、胆汁酸、カルシウム

はじめに

肝硬変症や溶血性疾患といった特殊病態下では、胆石、とりわけ黒色石が多く形成されることが明らかとなっている^{1~3)}。胃切除術後（以下、胃切除後）にも胆石、特に色素胆石が高率に認められることが最近明らかとな

り、その臨床的特徴や成因が論じられているが^{4~6)}、その胆汁成分に関する報告は少ない⁷⁾。そこで、胃切除後胆石症例の胆嚢胆汁分析、特に胆汁酸画分の分析から、その特徴について検討し、さらに結石種類や再建方法による比較も行った。

また、ビリルビンカルシウム石 (以下, ビ石)・黒色石ともに、結石生成にはビリルビンカルシウム (以下, Bil. Ca) や炭酸カルシウムなどのカルシウム (以下, Ca) 塩の形成が重要であることから⁸⁾、反応性の高いイオン化 Ca が重要な役割を果たすと考えられている^{9, 10)}。そこで、上記色素胆石症例の胆汁組成の特徴をふまえて、胆汁酸溶液モデルの Ca イオン捕捉能および Bil. Ca 形成の因子について検討したので報告する。

対象と方法

1. 胃切除後胆嚢結石症例における胆嚢胆汁の分析

1) 対象

教室にて、1988年8月から94年8月までに胆嚢摘出術を施行し、胆嚢胆汁を採取した症例のうち以下のa)～c)の3群に該当する症例を対象とした。胆石症例は、すべて胆嚢結石症（胆嚢・総胆管結石症を含み、肝内結石症を除く）であり、胆嚢水腫・膿腫、閉塞性黄疸、胆道癌、慢性肝炎、膵疾患、減黄術施行例は除き、また、胆汁酸分画にてUDCA画分が10%以上と極端に高いものも除外した。

内訳は、a) **対照** 13例（胆嚢コレステロールポリープ 7, 胆嚢腺筋症 2, 胆嚢腺腫 1, 肝血管腫 2, 肝動脈瘤 1で、特に併存疾患のない¹¹⁾もの）、b) **肝硬変症** 12例（無石 9, 黒色石 3）、c) **胃切除後** 胆石症27例の計52例である。

胃切除後胆石症 27例の胃切除の原疾患は胃癌24例と胃十二指腸潰瘍3例であった。その結石種類は**黒色石**14例、**ビ石**9例、**コレステロール胆石**（以下,**コ石**）4例（全例混合石）であり、再建術式はBillroth-I法（以下,**B-I**）

11例、食道-胃吻合 (E-G) 4例、Billroth-II 法 (B-II) 9例、食道空腸Roux-Y吻合 (R-Y) 3例であった。

2) 胆汁分析方法

胆汁は、開腹直後に無菌的に胆嚢穿刺により採取し、直ちにアルゴンガス封入遮光瓶に保存し、以下の項目を各方法を用いて測定した。a) pH : pH meter M-8AD (堀場製作所) にて、b) イオン化Ca濃度 : イオン電極法イオン化Ca測定装置 NOVA-2 (NOVA biomedical, USA) にて、c) 総Bil.濃度 : ビリルビン BII-テストワコー (和光純薬工業) を用いアルカリアゾビリルビン法にて、d) 各胆汁酸画分濃度 : 奥山の方法¹²⁾に準じて、 3α -hydroxysteroid dehydrogenase 固定化酵素カラムを用いたHPLC法にて、e) リン脂質濃度 : リン脂質 C-テストワコー (和光純薬工業) を用いコリンオキシダーゼ・DAOS法にて行った。なお、pH、総Bil.およびイオン化Caの測定は採取後30分以内に

行った。

2.胆汁酸溶液モデルにおけるCaイオン捕捉能の測定 および ビリルビンCaの沈殿条件の検索

1) 試料・試薬

グリココール酸Na (GC)、グリコケノデオキシコール酸Na (GCD C)、グリコデオキシコール酸Na (GDC)、タウロコール酸Na (TC)、タウロケノデオキシコール酸Na (TCD C)およびタウロデオキシコール酸Na (TDC)は Sigma chemical Co.(USA) 製を、グリコウルソデオキシコール酸Na (GUD C) およびタウロウルソデオキシコール酸Na (TUD C) は東京田辺製薬製 (純度98.5%以上) を使用した。

レシチン (卵製, 生化学用, 純度95%以上)、Tris (hydroxymethyl) aminomethane、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (以上, 試薬特級)、ビリルビンは和光純薬工業製を使用した。

2) Caイオン捕捉能の測定方法

Caへのaffinityの低い10mM Tris-HCl, 150mM NaClのbuffer (pH 7.0)を作製し¹³⁾、試料(胆汁酸)を濃度 0~100mg/mlに (0をcontrolとする)、また、CaCl₂·2H₂Oを濃度 20mMおよび40mMになるようbufferに溶解した。次に、胆汁酸溶液とCaCl₂溶液を4:1 (2ml:0.5ml)の割合で混合し、胆汁酸濃度を 0~80mg/ml, 総Ca濃度を 4mMおよび8mMとなるよう調製した。この混合液をアルゴンガス封入遮光瓶に密封し、37℃で24時間 incubation後、イオン化CaをNOVA-2にて3回測定し平均値を出し、さらにpH meterでpHを測定した。

(各溶液のBound Ca) = (controlの測定値) - (各溶液の測定値) として求めた。これを各溶液で2回以上行った。なお、bufferおよびCaCl₂溶液は2週間毎に作製し直し、その都度、controlは3回以上測定し、その平均値を用いた。

3) 胆汁酸のCaイオン捕捉能の測定

上記2)の方法を用いて以下の胆汁酸溶液および各胆汁酸の1/2量のレシチンを加えた(以下,+L/2)混合ミセル溶液についてイオン化Caを測定した。

a) 個々の胆汁酸溶液。

b) GCとGCDC、TCとTCDC、GDCとTDCの混合溶液。

c) 臨床例を参考に作製した、対照・LC・胃切除後の3種の胆汁酸溶液モデル。

4) 胆汁酸-Ca溶液とBil.による沈殿形成条件の検索

上記2)の手順で、GDC、TCおよびGDC+L/2のCaCl₂との混合溶液を37℃で24時間 incubationした。ここで、5mgおよび25mgのBil.を0.2Nおよび1.0NのNaOH 0.1mlに完全に溶解し、bufferで20倍希釈して濃度2.5および12.5mg/mlとした溶液を作製し、直ちに胆汁酸混合溶液に0.1ml加えて攪拌し、Bil.濃度が約0.1および0.5mg/ml (=10および50mg/dl)となるようにした。37℃で5分間

incubation後に遠心し (3000rpm, 5分)、肉眼的に沈殿の有無を確認し、さらにイオン化Caを測定した。

3. 統計学的処理

測定値は図中も含め、すべてmean±SDで表示し、Student's *t* testにて、危険率5%未満 ($p<0.05$) をもって有意差ありと判定した。

結果

1. 胆嚢胆汁の分析

a) 胃切除後群では、pHは平均7.08と、対照群の7.04と差がなく、結石種類でも大きな差を認めなかった。再建術式では、E-G、R-Y群がB-I、B-II群より低い傾向にあったが、有意差を認めなかった (図1)。なお、肝硬変群で平均 7.33と、対照群や胃切除後群より有意に高かった。

b) イオン化Ca濃度は、胃切除後群では平均 1.13mMと対照群 1.24mM、肝硬変群 1.17mMと差を認めず、また、結石種類や再

建術式間でも差を認めなかった(図2)。

c) 総Bil.濃度は、胃切除後群は平均 104 mg/dlと対照群 217mg/dlに比べ有意に低値であったが、肝硬変群 151mg/dlと差を認めなかった。胃切除後群の結石種類や再建術式間では差を認めなかった(図3)。

d) 胆汁酸画分は、グリシン抱合型、タウリン抱合型および遊離型の各コール酸(CA)、ケノデオキシコール酸(CDCA)、デオキシコール酸(DCA)、ウルソデオキシコール酸(UDCA)およびリトコール酸(LCA)の計15種を検出し、総胆汁酸濃度は各画分濃度の合計で算出した。総濃度は、胃切除後群が平均 46.6mg/ml、肝硬変群が38.8mg/mlといずれも対照群 79.5mg/mlに比べ有意に低かった(図4)。

各群の胆汁酸画分の割合とG/T(グリシン/タウリン)比をみると、対照群では、グリシン抱合型72%、タウリン抱合型28%でG/T比が2.55であり、CA画分(各抱合型の和)およ

びCDCA画分が各々約40%、約43%、DCA画分が約13%であった。これに対し、胃切除後群はG/T比が4.81と高く、DCA画分も約20%と高い傾向にあった。また、肝硬変群はG/T比が1.90と低く、DCA画分も約6%と少なかった。(表1)。胃切除後群の結石種類では変わらないのに対し、再建術式ではR-YでG/T比が3.00と低かった(表2)。

e) リン脂質濃度は、総胆汁酸濃度と同じ傾向を示し、胃切除後群で平均23.0mg/ml、肝硬変症群で22.0mg/mlと、対照群の39.7mg/mlに比べ有意に低かった。また、3群とも総胆汁酸濃度の約半分であった(図5)。

総胆汁酸濃度とリン脂質濃度の関係を見ると(図6)、ほぼ原点を通る傾き0.45の回帰直線となり、傾き0.25と1の間にほぼ全例が入った。すなわち、リン脂質濃度は、総胆汁酸濃度の1/4から1の間で、平均すると約1/2であった。

また、図には示さなかったが、肝硬変症群

の無石例と黒色石例を比較すると、以上 a) ~e) のすべてにおいて黒色石例の濃度が低い
が大きな差を認めなかった。

2. 胆汁酸のCaイオン捕捉能

はじめに、Caイオン捕捉能の測定方法の
妥当性について検討した。incubation時間
を2、6、24、48、96時間と変え、濃度が10
あるいは20mg/mlのGDC、TC溶液および胆
汁酸の1/2量のレシチンを加えた(+L/2) 混
合ミセル溶液を用いた(図7)。イオン化Ca測
定値はどの測定時間でも検体差をほとんど認
めず、各溶液とも24~48時間では安定して
いた。しかし、+L/2溶液でpHが48時間から
下がる例があったため、incubation時間は
24時間に設定した。

a) GDC単独溶液では、総Ca濃度 0から
12mMの範囲で、同じ胆汁酸濃度ではCaイ
オン捕捉能は総Ca濃度にほぼ比例した(図8-
a)。また、胆汁酸濃度の上昇に伴い捕捉能も
高くなるが、40mg/mlをこえる高濃度になる

と上昇も鈍化した(図8-b)。

次に、各胆汁酸単独溶液では、グリシン・タウリン両抱合型ともに捕捉能は、 $DCA > CDCA > UDCA > CA$ の順で、前3者は大差ないが、CAは3者に比べ半分程度と低かった。また、同種胆汁酸では、グリシン抱合型はタウリン抱合型より約1.5倍の捕捉能を持っていた。なお、GCDC 5~20mg/ml、Ca 8mM混合溶液は溶解度の影響からかゲル状となり、捕捉能の上昇がみられた。

レシチンとの混合ミセル溶液では、各抱合型とも捕捉能は $DCA > CDCA > CA$ の順と胆汁酸単独溶液と同様であった。しかし、 $DCA \cdot CDCA$ ともにレシチンを加えても、5~20mg/mlの低濃度でやや捕捉能の上昇を認めるものの、全体としてほとんど上昇を認めないのに対し、CAでは著明な上昇を認めた(図9, 10)。

b) GCとGCDCの1:1混合溶液では、胆汁酸単独ではともにCAとCDCAの中間に近

い値をとった。+L/2溶液では、胆汁酸単独より捕捉能がやや上昇した(図11-a)。TCとTCDCの1:1混合溶液でも同様の結果であった。

GDCとTDCの混合溶液では、胆汁酸単独で1:1の場合、5~10mg/mlの低濃度ではTDCに近く、20mg/mlからはGDCに近い値をとるが、3:1ではほぼGDCと同じとなった。しかし、+L/2溶液では、1:1の場合胆汁酸単独より捕捉能が下がるため、GDCとTDCの中間に近い値をとった(図11-b)。

c) 胆汁酸溶液モデルは、表1を参考に、対照・LC・胃切除後の3種を、UDCA・LCAなど割合の少ないものは割愛してG/T比が各々3、2、5となるように作製した(表3)。胆汁酸単独溶液では、捕捉能は胃切除後>対照>LCの順に高かったが、大きな差は認められなかった。+L/2溶液では、胆汁酸単独と比べ上記とは逆の順で捕捉能の上昇が大きく、結果として各モデルの捕捉能はほとんど

差を認めなくなった。また、濃度80mg/mlでは、どのモデルともレシチンを加えても捕捉能の差はわずかであった(図12)。

3.胆汁酸溶液における Bil.Caの沈殿条件の検索

上記2と同様に沈殿形成判定方法の妥当性について検討した。incubation時間を5分、2、6、24時間と変え、ビリルビン濃度が0.5あるいは1.0mg/ml、総Ca濃度が4あるいは8mMとした溶液のイオン化Ca濃度を測定した。6時間までは測定値は安定していたため、ビリルビンの変性を考慮してincubation時間は5分とした。

GDC溶液にBil.を加えると、主にGDCの低濃度でBil.濃度とともに全体のCa捕捉能があがった(図13-a)。TC溶液でも同様であるが、その上昇はGDCより著明であった(図13-b)。GDC+L/2混合溶液でも、Bil.を加えるとCa捕捉能が高くなった(図13-c)。

各溶液の沈殿形成の有無をまとめると(表

4)、Bil.濃度 0.1mg/ml ($=10\text{mg/dl}$)では
GDC、TC溶液ともCa濃度に関わらず沈殿
は生じなかったが、GDC+L/2のCa濃度
 8mM 溶液では、GDC濃度 20mg/ml 以下で沈
殿を生じた。Bil.濃度 0.5mg/ml ($=50\text{mg/dl}$)
では、GDC溶液は、Ca濃度 $4\text{mM} \cdot 8\text{mM}$ と
もにGDC濃度 20mg/ml 以下で、TC溶液では、
Ca濃度 8mM のときだけTC濃度 20mg/ml 以
下で各々沈殿を生じた。これに対し、
GDC+L/2溶液では、Ca濃度 $4\text{mM} \cdot 8\text{mM}$ と
もにGDC濃度 40mg/ml でも沈殿を生じた。

考察

色素胆石は、ピ石と黒色石に大別され、その成因も異なるものと考えられている。ピ石は、抱合型Bil.が主に細菌性の β -glucuronidase (β -G)の働きで脱抱合され、生成された非抱合型Bil.がCaイオンと結合して不溶性のBil.Caを形成し¹⁴⁾、さらにムチンなどと凝集して結石を構成すると考えられている¹⁵⁾。これに対して、黒色石は、その主成分の黒色色素はBil.Caの重合体と考えられている^{16,17)}。一般に β -G活性が低いことから、非抱合型Bil.の生成においてピ石と異なる機序も考えなければならないが、不明な点が多い。

教室では、黒色石例に関して、溶血性疾患や肝硬変症といった特殊な背景疾患をもつ症例の胆汁組成を分析し、遊離型Bil.の増加²⁾、あるいは胆汁酸をはじめとする胆汁脂質濃度の低下に伴う反応性の高いイオン化Ca濃度の増加³⁾、を原因の一つとして挙げてきた。

さらに、胃切除後黒色石例に関しては、無背景の黒色石例より胆汁酸・リン脂質濃度は有意に低く、総Ca濃度は変わらないがイオン化Caは有意に高い⁴⁾、という結果を出している。

欧米においては、動物実験では、コ石¹⁸⁾および色素石形成例¹⁹⁾で総Caおよびイオン化Ca濃度が上昇するという報告があり、人ではコ石例も色素石例も変化がないとするものと^{20,21)}、色素石例では上昇する²²⁾、という報告があり、一定した見解は得られていない。

胆汁酸は濃度が高くなるとCa捕捉能も高くなるが、その種類によって捕捉能が異なる^{9,23~25)}。そこで、総胆汁酸濃度だけでなく、その分画も測定する必要がある、特に胃切除後胆石例の報告はないことから、今回、検討を行った。

臨床例の検討結果より、注目すべき第一点は、胃切除後群・肝硬変症群で、総胆汁酸お

よびリン脂質濃度が、対照群に比べ有意に低かったのに対し、イオン化Ca濃度は高値を示さなかったことである。このことから、色素胆石の生成には必ずしもイオン化Ca濃度が高い必要はないのではないか、という疑問が生まれた。

第二点は、肝硬変症群はG/T比が約2と対照群より低いのに対し、胃切除後群では逆に約5と高かったことである。その値自体は、肝硬変症の場合は胆汁酸排泄量の低下に伴う相対的タウリン抱合型の増加、胃切除後の場合は胆汁酸吸収不良やタウリンプールの減少などが考えられる。しかし、胆汁酸のCa捕捉能は、グリシン抱合型がタウリン抱合型より大きいことから、2つの群ともに色素胆石が多いことを胆汁酸画分から説明するには矛盾が生じる。

そこで、Ca捕捉能に関するモデル実験を行った。pHやコレステロール濃度はCa捕捉能に対する影響が少ないことから^{9,25)}、今回

は胆汁酸、リン脂質、および総Ca濃度の3点に絞った単純な系で、臨床例に則した条件にて検討した。

胆汁酸単独溶液のCa捕捉能の結果は、諸家の報告^{9,23~25)}と同様に、グリシン抱合型がタウリン抱合型より、di-hydroxy型のCDCAやDCAがtri-hydroxy型のCAより捕捉能が高かった。これに対し、胆汁酸にレシチンを加えた溶液ではCa捕捉能は高くなり^{9,25)}、ミセルの大きさが増大することに伴ったものと推測されていたが⁹⁾、今回の実験で、胆汁酸の種類により大きな差があることがわかった。すなわち、両抱合型ともCAはレシチンを加えたことにより、Ca捕捉能が大幅に増大するのに対し、CDCAやDCAではあまり増大しないということである。これより、胆汁酸の種類でミセルの大きさが変化する²⁶⁾こと以外にも、Ca捕捉能に影響を与える立体構造的な原因があると考えられた。

さらに、CAとCDCA、あるいはグリシン

抱合型とタウリン抱合型の混合溶液でも同様に、レシチンを加えると、結果的に胆汁酸同士のCa捕捉能の差を少なくしている。こうして、図12-bの如く、作製した3種の胆汁酸＋レシチン溶液モデルでは、G/T比が2から5と大きく異なるのに対し、どの濃度でもCa捕捉能はほとんど差を認めなかった。すなわち、このモデルでは、Ca捕捉能は胆汁酸濃度に規定され、その分画にはあまり影響されないという結果となった。

また、胆汁酸のCa捕捉能は、生理的範囲では総Ca濃度にほぼ比例して増大し、イオン化Ca濃度はほぼ一定していた。胆汁酸のこのようなCaイオンに対するbuffer様の働きにより、特に高濃度胆汁酸溶液ではイオン化Ca濃度の変化は乏しいといえる。事実、胆汁酸＋レシチンのモデル溶液のCa捕捉能は、総Ca濃度が4mMの場合、胆汁酸濃度40と80mg/mlの間で約0.2mMしか変わらないことがわかる（図12-b）。臨床例で胆汁酸濃度

が有意に違っても、イオン化Ca濃度に大きな差が出ない一つの理由と考えられる。

以上から、胆汁酸やリン脂質濃度が低い、いわゆる薄い胆汁が、Bil. CaをはじめとするCa塩の形成すなわち色素胆石形成に有利であろうことは予想できる。しかし、併存疾患のない黒色石例の胆汁組成は、対照群とほとんど変わりがなく¹¹⁾(今回も、検討に加えなかったが、19例について測定し同様の結果を得ている)、単純に胆汁酸濃度だけですべてを説明することはできない。

そこで、実際に胆汁酸溶液でBil. Caの沈殿が形成される条件として何が重要であるのかを検討した。表4の如く、この実験系におけるBil. Caの沈殿形成に限れば、同一条件では、TCよりGDC溶液のほうが沈殿を生じやすいということがいえる。図13-a, bから、実際にはTC溶液の方がイオン化Ca濃度は圧倒的に高いのに反してこのような現象が起きるのは、GDCよりTC溶液のほうがfreeの

Bil.をより捕捉する能力があるからと考えられる。また、それに伴いCa捕捉能も上昇していることも判明した。

次に、GDCとGDC+L/2溶液では、Ca捕捉能はほとんど変わらないが、Bil.Caの沈殿は+L/2溶液のほうが生じやすかった。Bil.を加えたときの各溶液のCa捕捉能の上昇はわずかであり、レシチンを加えたことにより、Bil.捕捉量は増大したが、Ca捕捉能を上げるほどの変化はないと思われた。

この検討より、Bil.Caの沈殿形成には、 $(\text{FreeのBil.量}) > (\text{胆汁酸+レシチンの混合ミセル溶液などのBil.捕捉量})$ の状態が必要であり、イオン化Ca濃度とは必ずしも相関するものではないと考えられる。さらに、胆汁酸濃度が低いほど、リン脂質濃度が高いほど、総Ca濃度が高いほど、Bil.捕捉量は小さくなり、また、グリシン抱合型およびDCA・CDCA画分の割合が高いほど、Bil.捕捉量は小さくなると予測された。実際には、

胆汁中にはunconjugated Bil.より
monoconjugated Bil.が多いであろうし、
他の多くの因子に左右されるであろうが、
Ca捕捉能とは異なり、胆汁酸濃度が同じで
あれば、その画分に影響されることになる
と考えられた。

Bil.Caの形成、あるいはイオン化Caの動
態に影響を与える他の因子としては、細菌性
の β -glucuronidaseとムチンの関与、銅な
どの微量元素²⁷⁾、胆汁中蛋白などが考えら
れており、今後の検討が必要と思われる。

以上、胆汁中のイオン化Caの動態を胆汁
脂質の働きを中心に検討した。胆石症の4F
に肥満や年齢が入っているように、胆石症は
全身病の一つであると考えられる。最終的に
は、そのような広い観点から色素胆石の成因
を追求していくことが大切であろう。

結語

- 1) 胃切除後胆石症例の胆嚢胆汁は、対照

例より胆汁酸やリン脂質濃度が有意に低かったものの、イオン化Ca濃度は差を認めず、またG/T比が5と高いことが明らかとなった。

2) *in vitro*で胆汁酸およびレシチンを加えた人工胆汁溶液のCaイオン捕捉能を測定した。レシチンを加えることで、捕捉能はtri-hydroxy型で大きく上昇し、グリシン・タウリン抱合型混合溶液では低下した。

3) 臨床例に則した胆汁酸＋レシチン混合溶液モデルのCaイオン捕捉能は、G/T比の影響が少なく、主に低濃度では胆汁酸濃度に規定された。

4) 胆汁酸溶液に遊離ビリルビンを加えた沈殿形成条件の検索では、高濃度あるいはタウリン抱合型やtri-hydroxy型胆汁酸でビリルビン捕捉能が大きく、沈殿が形成されにくかった。

5) 以上より、胃切除後色素胆石形成の因子として、総胆汁酸濃度や胆汁酸画分がイオン化Ca濃度より影響が大きいと考えられた。

文献

- 1) 伊勢秀雄、臼井律郎、北山 修ほか：心
弁置換後胆石． 胆と膵 11：1037-1041，
1990
- 2) 臼井律郎、伊勢秀雄、北山 修ほか：溶
血性疾患に合併する黒色胆石の生成機序．
日消誌 88：1426-1435，1991
- 3) 臼井律郎、伊勢秀雄、北山 修ほか：胆
汁組成の特徴からみた肝硬変合併黒色石の生
成機序． 胆と膵 11：1037-1041，1990
- 4) 田島芳雄、手塚幹雄、矢尾板勤ほか：本
邦における胃切除後胆石症の現況－全国133
施設のアンケート調査より－． 日消外会誌
23：1078-1085，1990
- 5) 伊勢秀雄、臼井律郎、北山 修ほか：胃
切後胆石の生成に関与する因子について．
胆道 5：552-557，1991
- 6) 伊勢秀雄、早坂弘人、北山 修ほか：特
殊病態と治療方針 胃切後胆石症の病態－臨
床例の検討－． 肝胆膵 27：795-801，1993

- 7) 臼井律郎、伊勢秀雄、高橋良延他：胆石の種類と胆汁組成からみた胃切除後胆石の成因．日消外会誌 23：2350-2354, 1990
- 8) 鈴木範美、伊勢秀雄、北山 修ほか：胆石の生成機序 色素胆石ービリルビンカルシウム石、黒色石ー．肝胆膵 27：657-664, 1993
- 9) 豊島 隆、伊勢秀雄、新谷史明ほか：胆汁中イオン化カルシウム濃度を規定する因子についてー特に胆汁酸の影響に関してー．胆道 3：138-147, 1989
- 10) 臼井律郎、伊勢秀雄、高橋良延ほか；胆汁中イオン化カルシウム濃度を規定する因子ーヒト胆管胆汁組成からの検討ー．胆道 4：42-47, 1990
- 11) 伊勢秀雄、臼井律郎、北山 修ほか：胆汁組成の変動と黒色石の形成．胆と膵 12：979-982, 1991
- 12) 奥山澄彦：高速液体クロマトグラフィ法と固定化酵素カラムの組み合わせによる血清

遊離およびグリシン抱合・タウリン抱合各胆汁酸分画の分析. 臨床病理 29 : 446-458, 1981

13) Crowell JA, Bowers GN Jr. : Apparent binding of ionized calcium by various buffers. Clin Chem 31 : 267-270, 1985

14) Maki T, Sato T, Sato T : A study on the activity of β -glucuronidase in bile in connection with precipitation of calcium bilirubinate. Tohoku J exp Med 77 : 179-186, 1962

15) 森安章人、伊勢秀雄、北山 修ほか : 胆石中ムチンの分布とその意義－胆石薄切標本の観察－. 胆と膵 13 : 85-89, 1992

16) 鈴木範美 : 黒色胆石の成因とその臨床. 日消外会誌 17 : 517-526, 1984

17) 新妻義文、鈴木範美、新谷史明、他 : 黒色石の成因－黒色色素の重合機構と炭酸カルシウムの析出について－. 日消誌 84 :

1295-1303, 1987

18) Strichartz SD, Abedin MZ, Abdou S, et al : Increased biliary calcium in cholesterol gallstone formation. Am J Surg 155; 131-137, 1988

19) Dawes LG, Nahrwold DL, Rege RV : Supersaturation of canine gallbladder bile with calcium bilirubinate during formation of pigment gallstones. Am J Surg 157; 82-87, 1989

20) Dawes LG, Rege RV : Calcium and calcium binding in human gallstone disease. Arch Surg 125; 1606-1609, 1990

21) Gleeson D, Hood KA, Murphy GM, et al : Calcium and carbonate ion concentrations in gallbladder and hepatic bile. Gastroenterology 102; 1707-1716, 1992

22) Shiffman ML, Sugerman HJ, Moore EW, et al : Calcium in human gallbladder bile. J Lab Clin Med 120; 875-884, 1992

23) Moore EW : The role of calcium in the pathogenesis of gallstone: Ca^{++} electrode studies of model bile salt solution and other biologic systems. Hepatology 4; 228S-243S, 1984

24) Natarajan R, Lndenbaum S : The binding of Ca^{2+} to taurine- and glycine-conjugated bile salt micelles. Biochim Biophys Acta 711; 66-74, 1982

25) Donovan JM, Leonard MR, Carey MC, et al. : Calcium affinity for biliary lipid aggregates in model biles: complementary importance of bile salts and lecithin. Gastroenterology 107; 831-846, 1994

26) Carey MC, Small DM : Micelle

formation by bile salts. Physical-chemical and thermodynamic consideration. Arch Intern Med 130; 506-525, 1972

27) Suzuki N : On bilirubin-metal complex compound in relation to black pigment gallstones. Tohoku J exp Med 90 : 195-205, 1966

図 1：胆嚢胆汁の pH

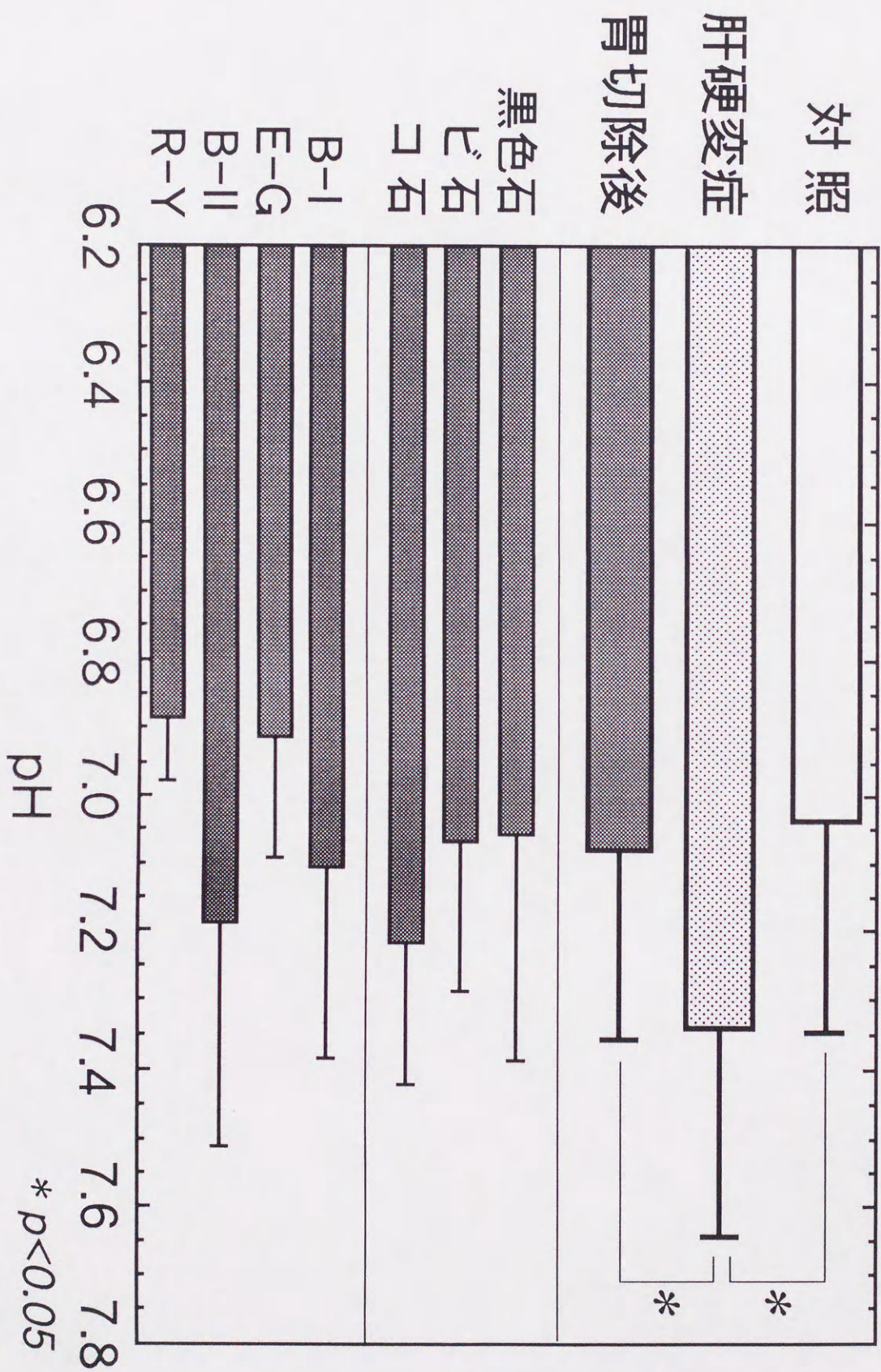


図2：胆嚢胆汁のCaイオン濃度

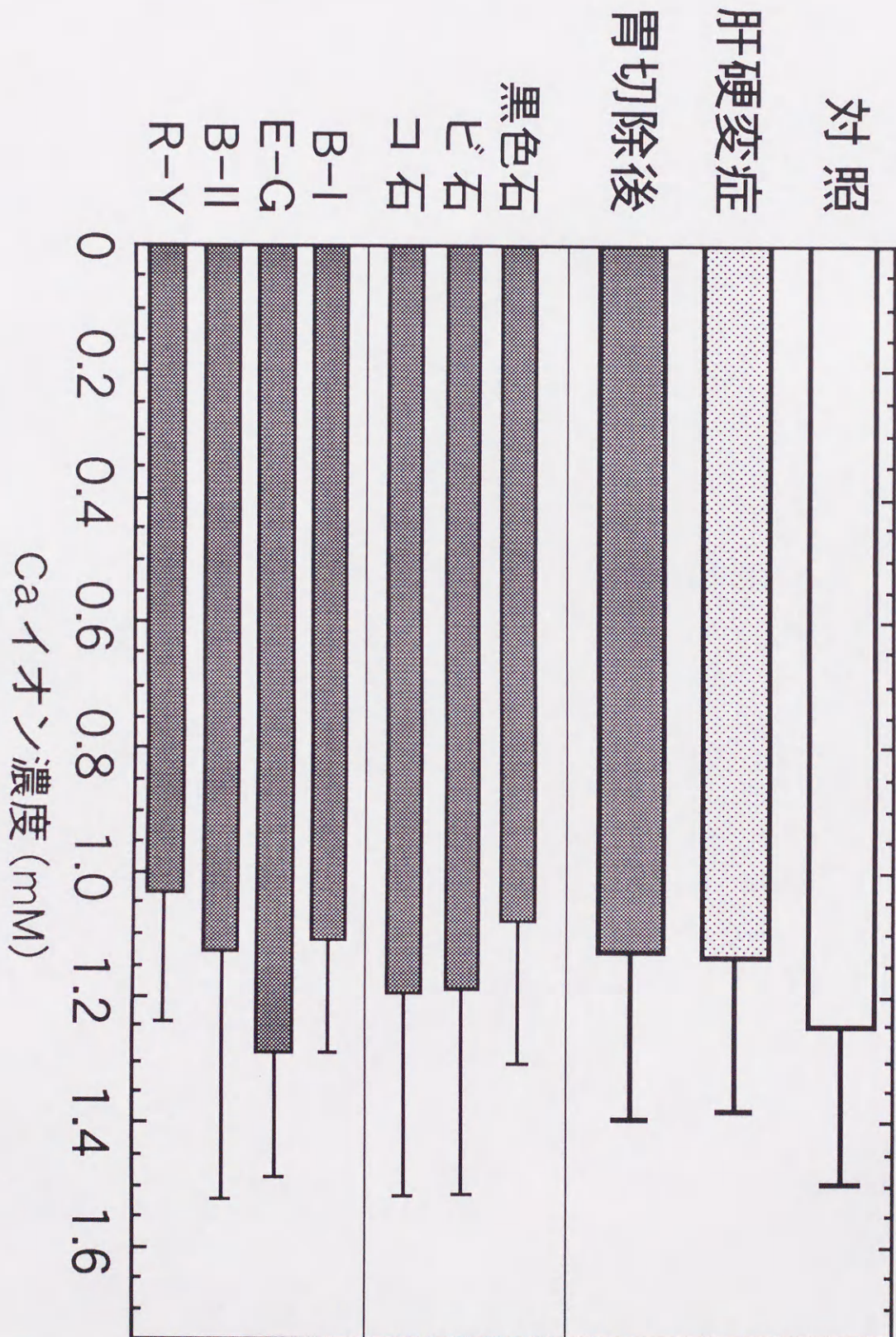


図3：胆嚢胆汁の総ビリルビン濃度

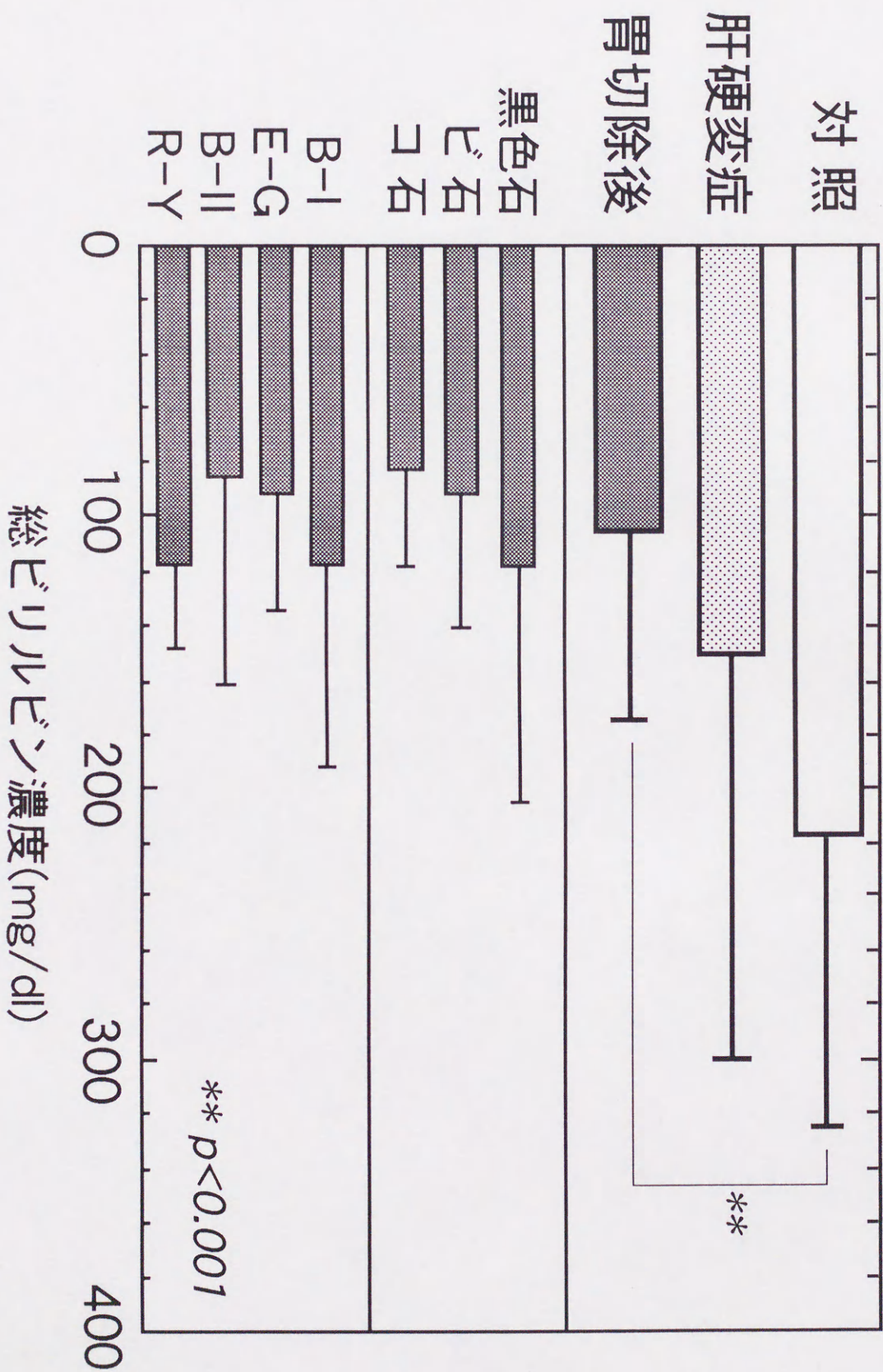


図4：胆嚢胆汁の総胆汁酸濃度

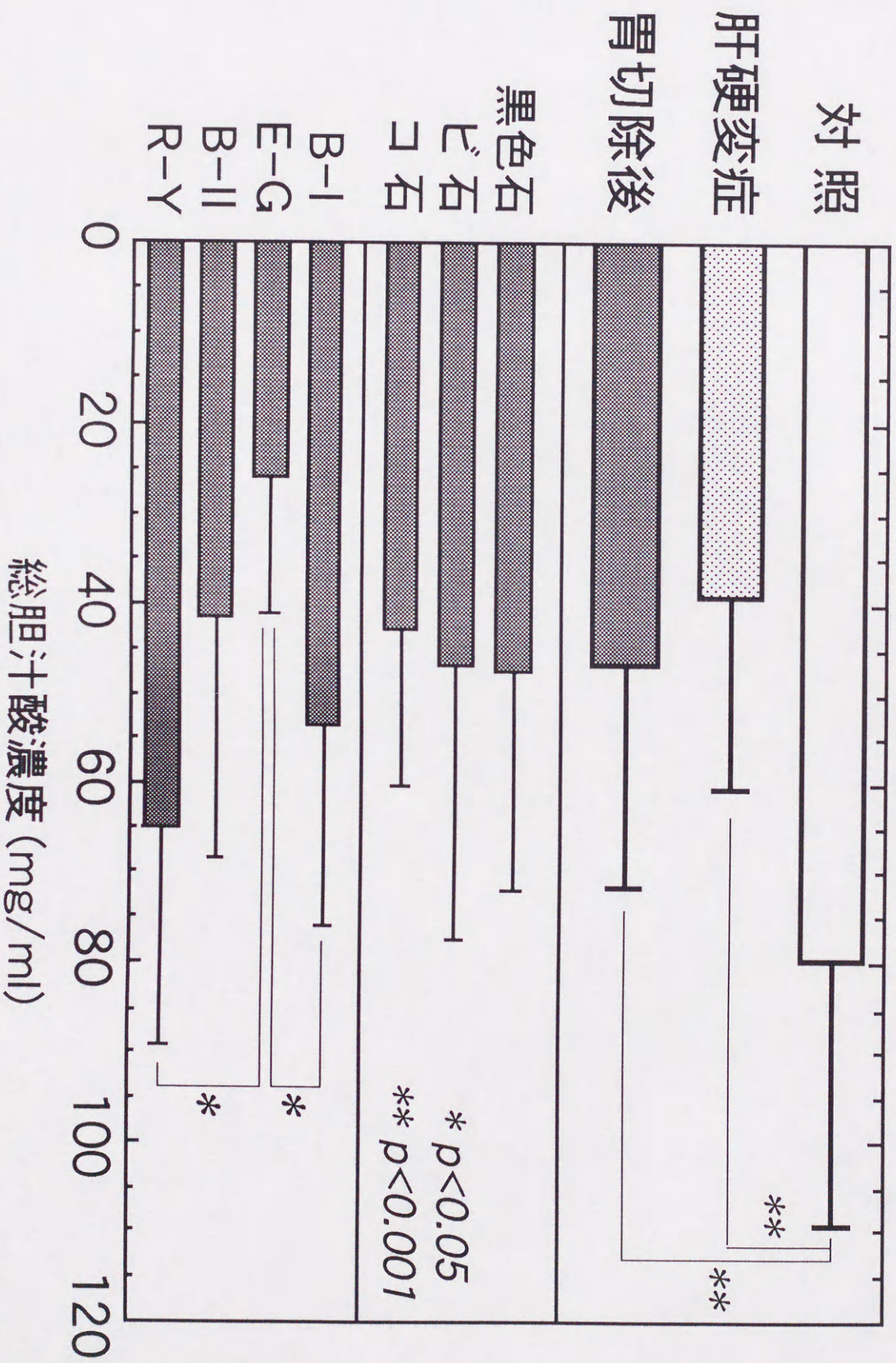


図5：胆嚢胆汁のリン脂質濃度

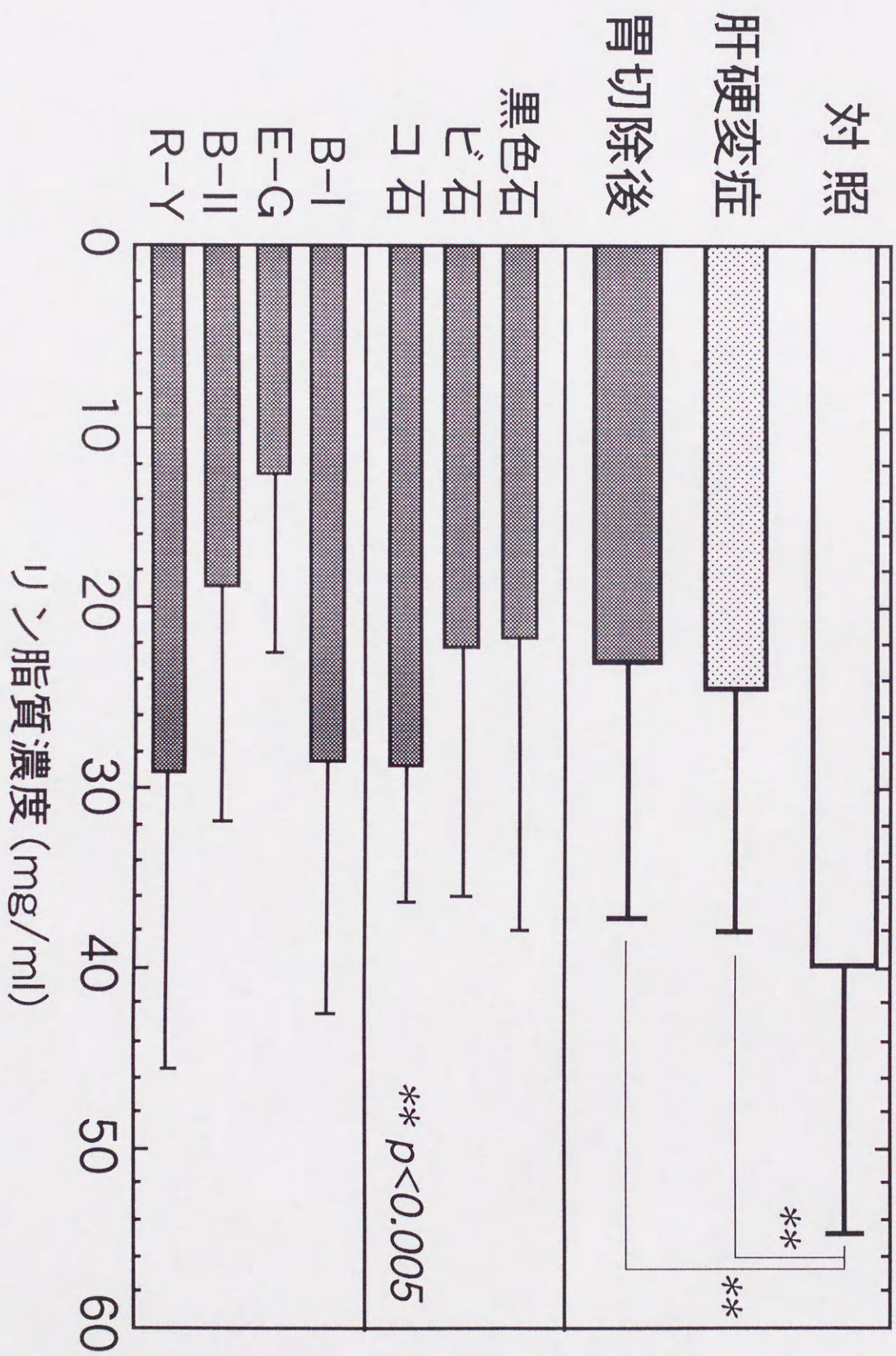


図6：総胆汁酸濃度およびリン脂質濃度の関係

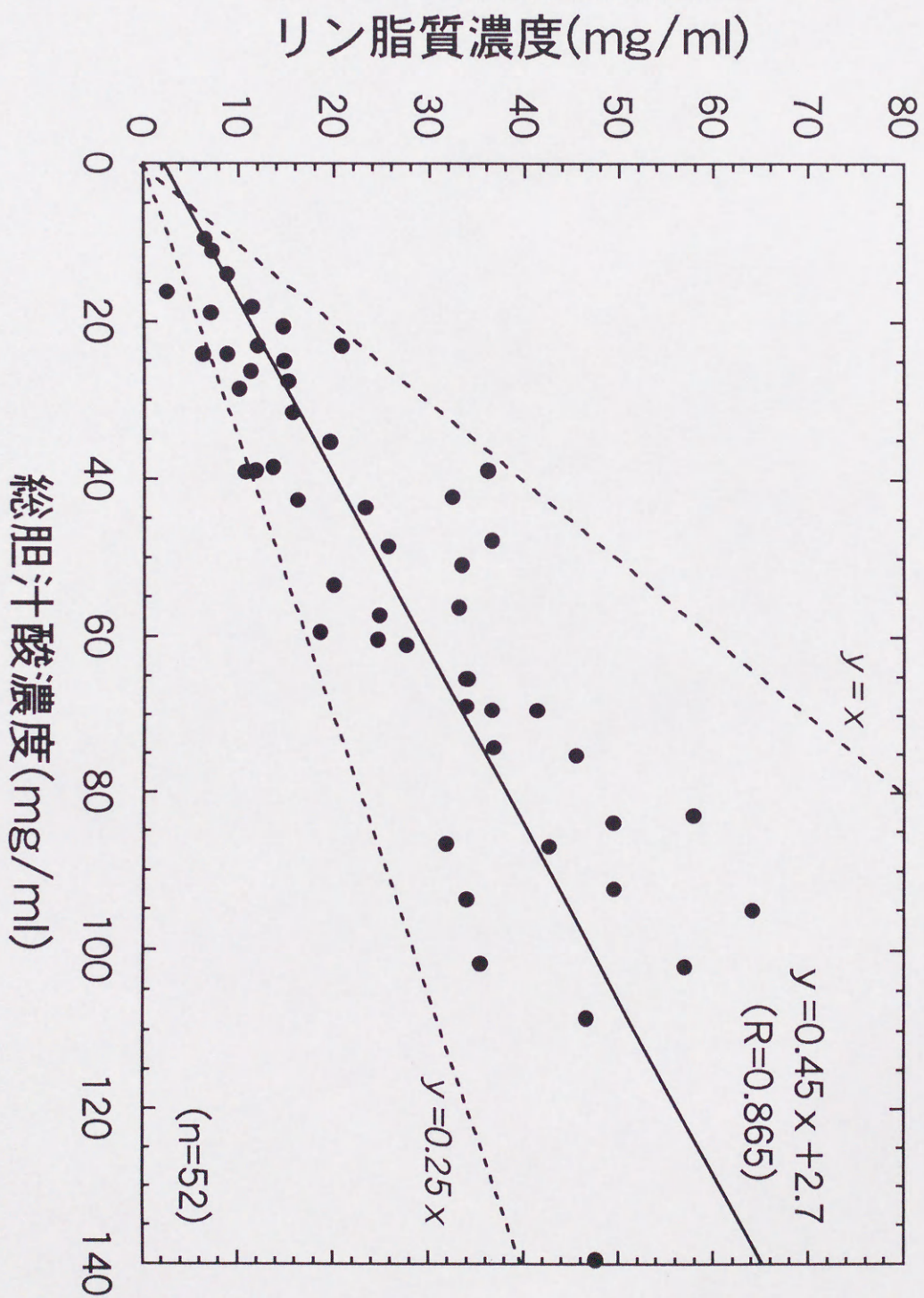


図7: イオン化CaおよびpH測定値の時間経過

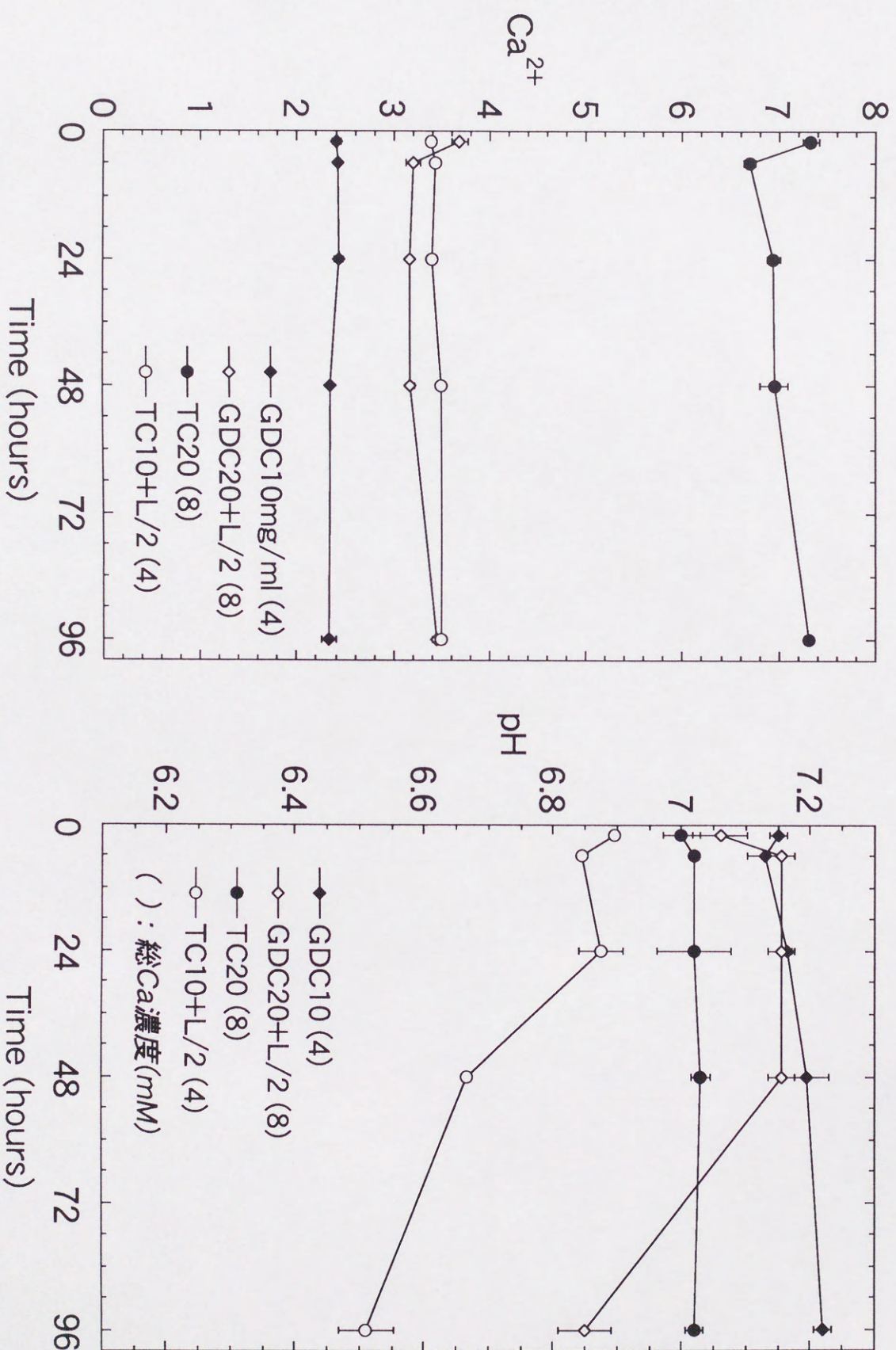


図8 : GDC溶液のCaイオン捕捉能

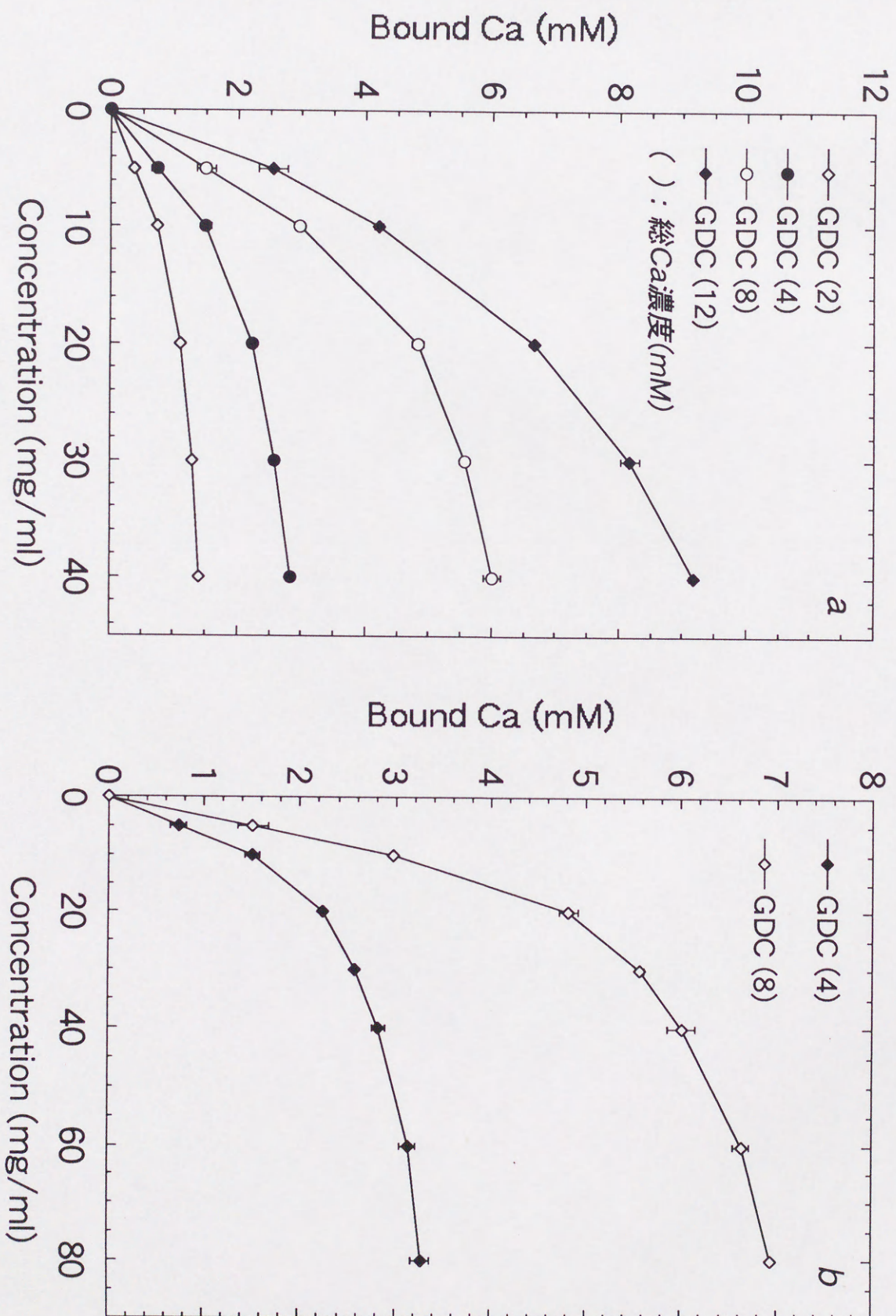


図9：グリシン抱合型胆汁酸溶液のCaイオン捕捉能
(a: 胆汁酸単独, b: 胆汁酸+1/2量のレシチン)

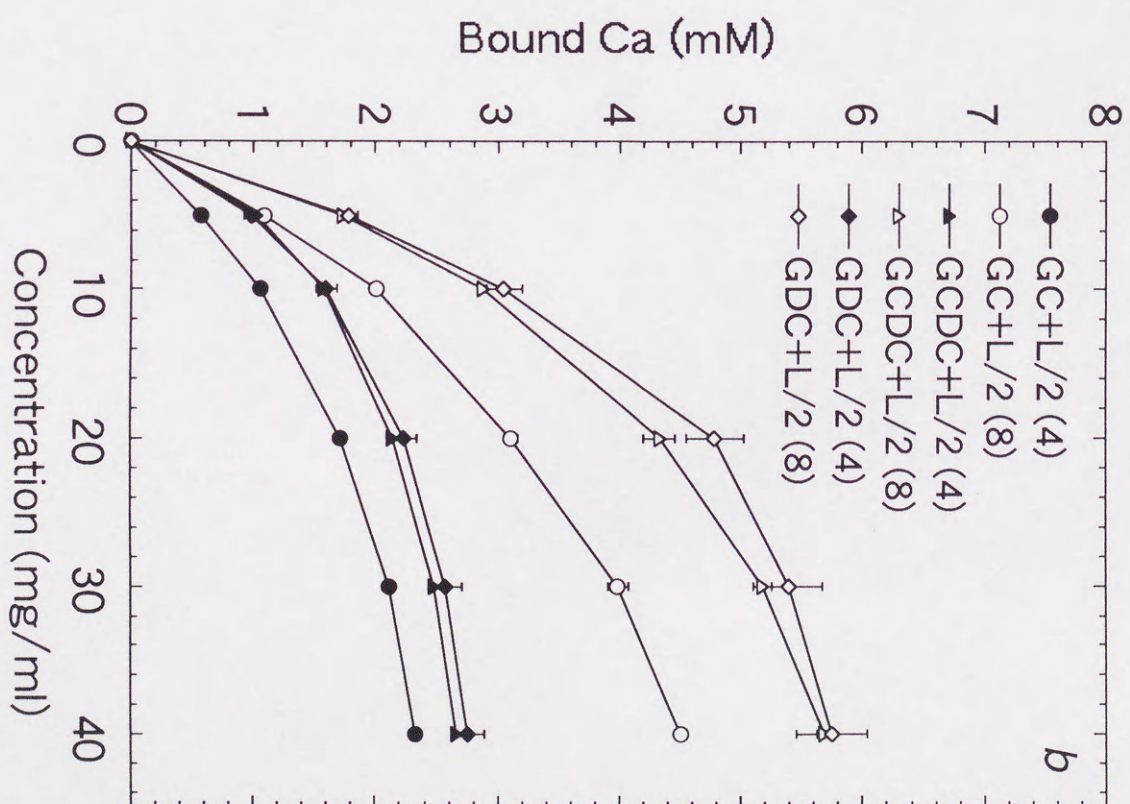
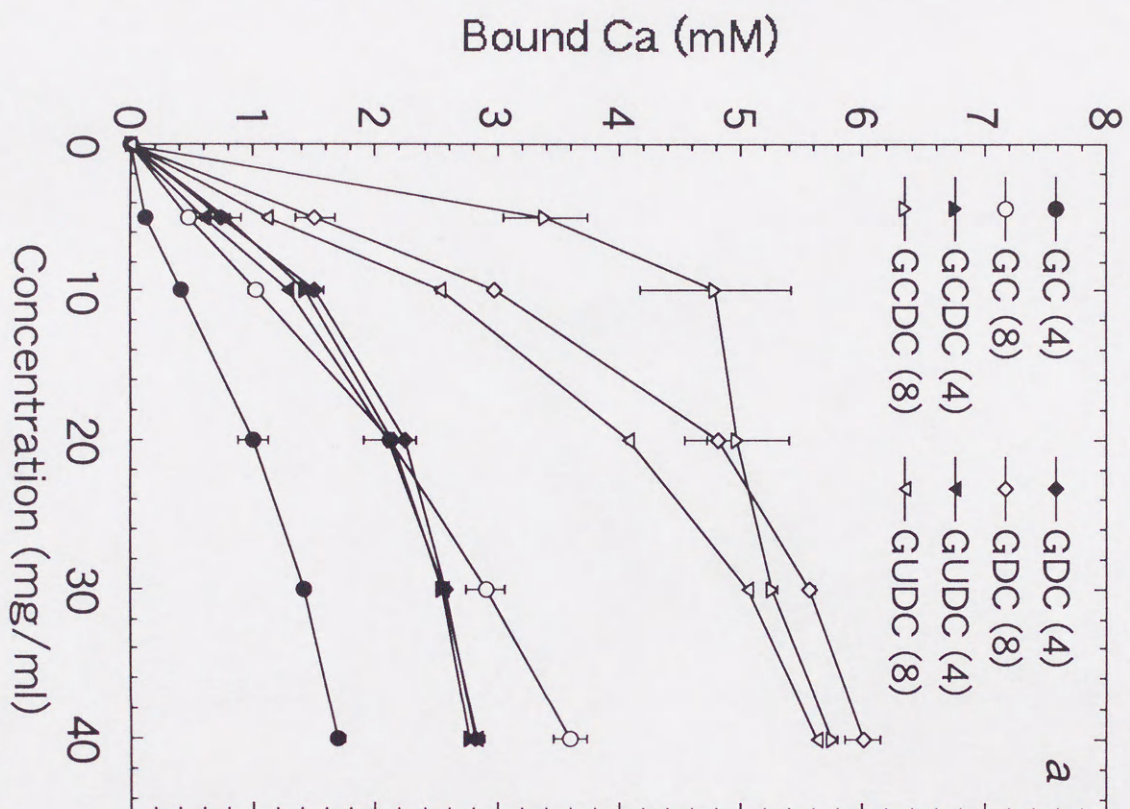


図10：タウリン抱合型胆汁酸溶液のCaイオン捕捉能
(a: 胆汁酸単独, b: 胆汁酸+1/2量のレシチン)

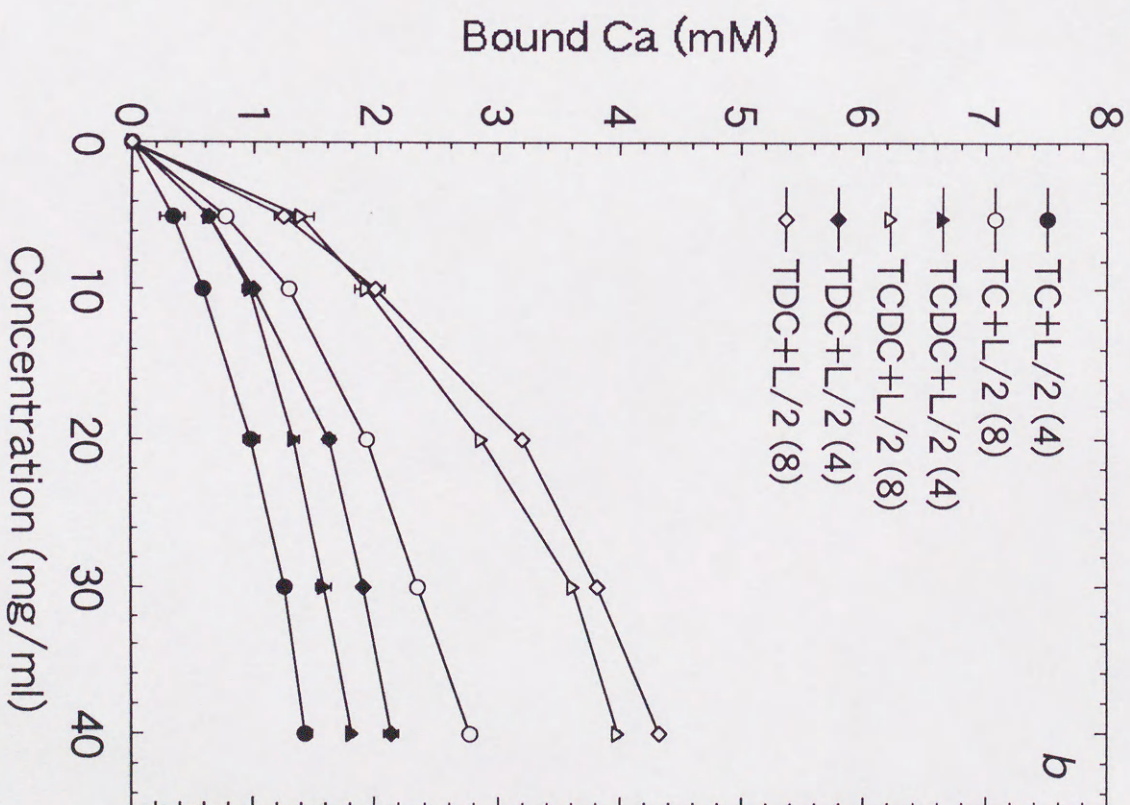
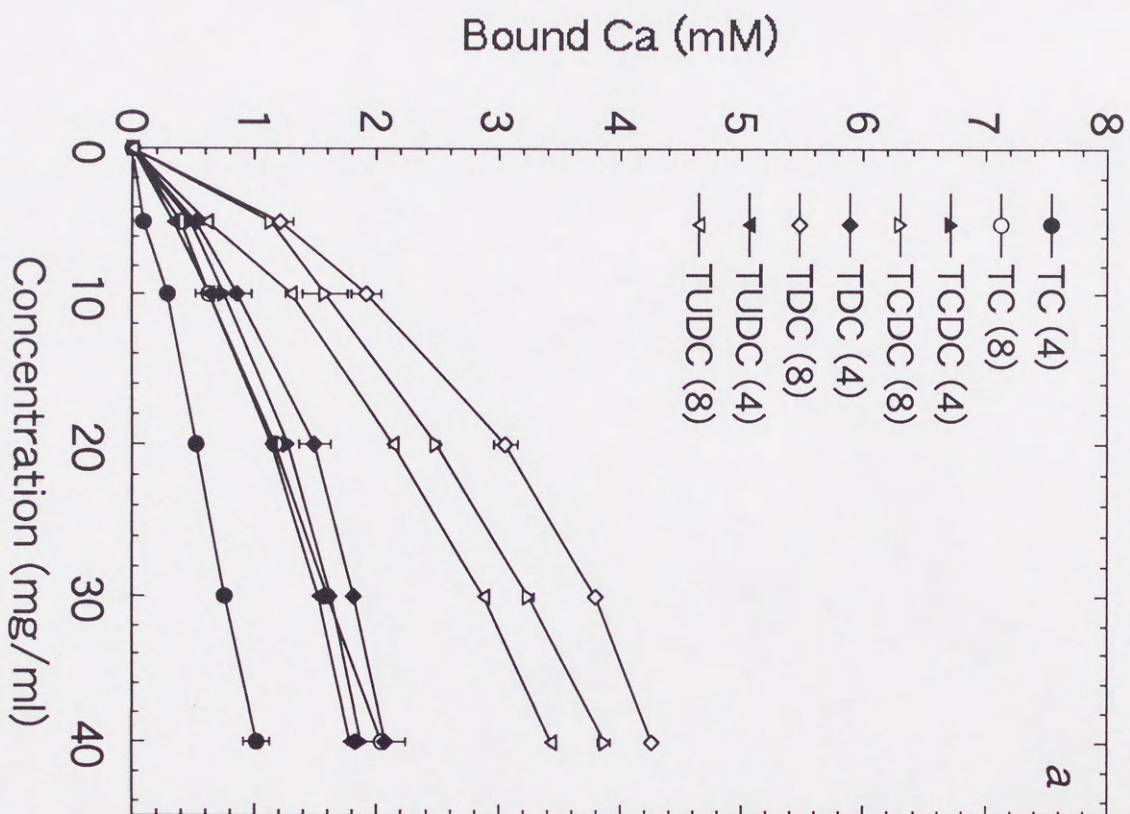


図11：GCとGCD C(a) 及びびGDCとTDC(b) 混合溶液
のCaイオン捕捉能

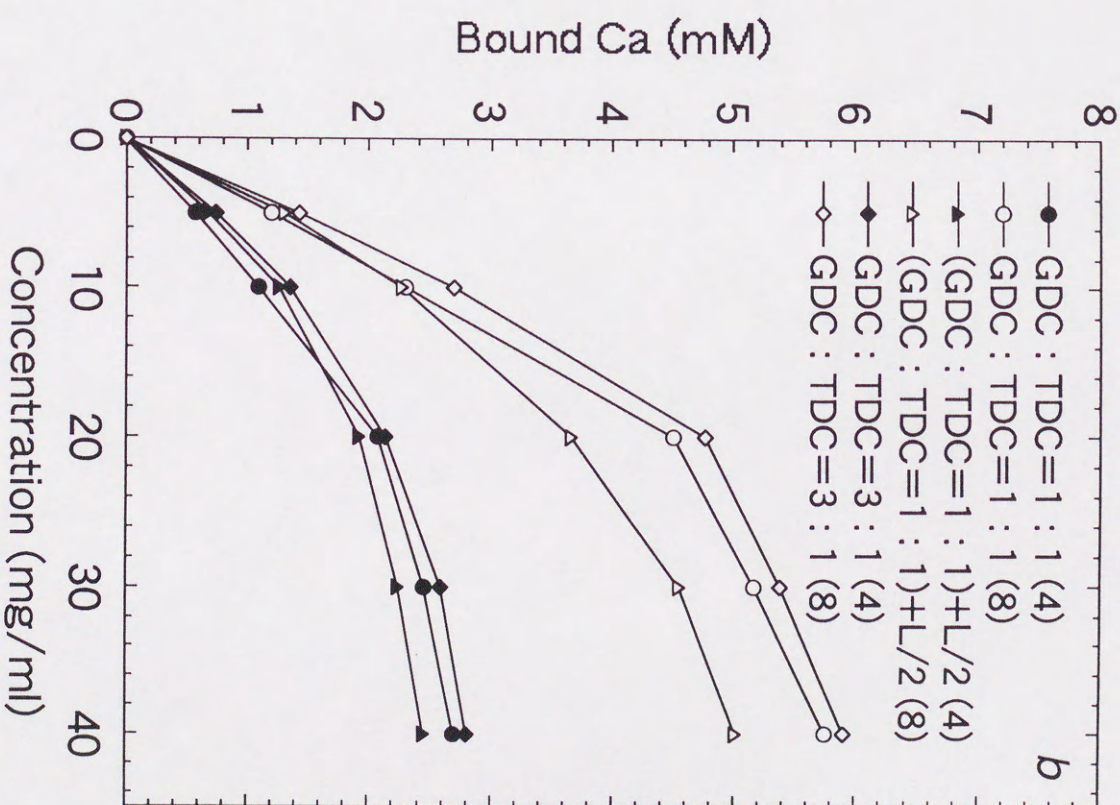
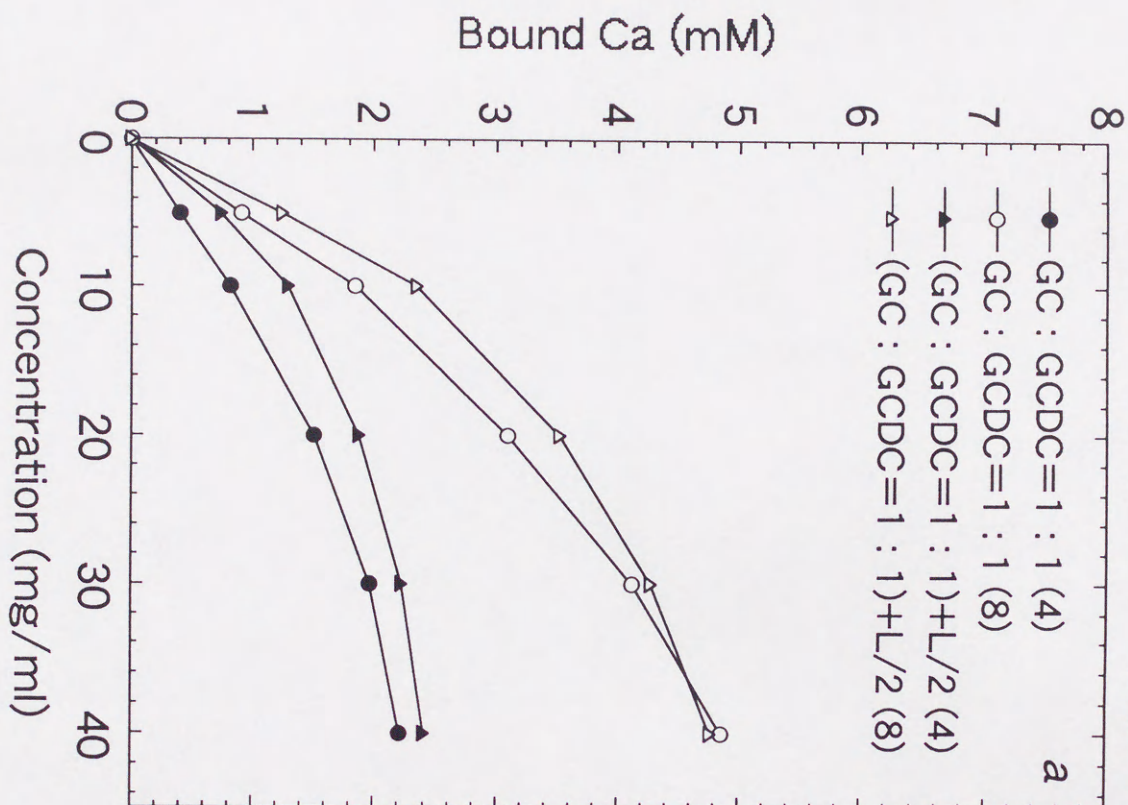


図12：モデル胆汁酸溶液のCaイオン捕捉能
(a: 胆汁酸単独, b: 胆汁酸+1/2量のレシチン)

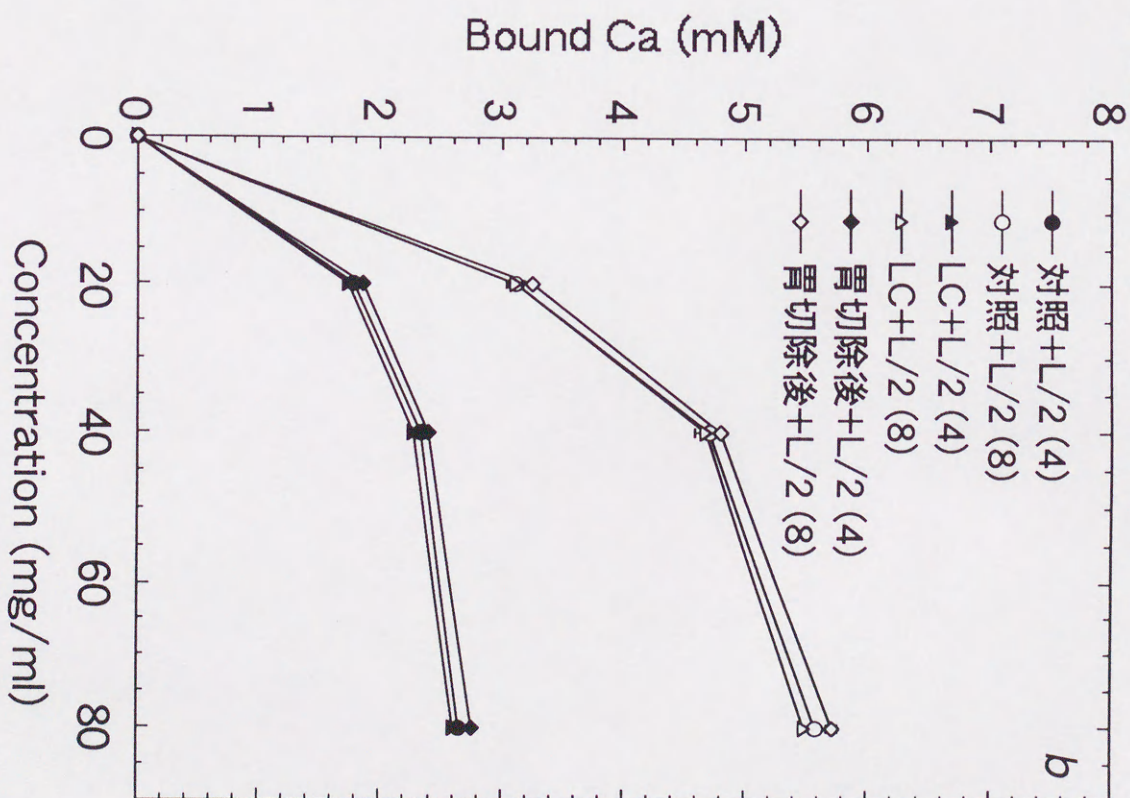
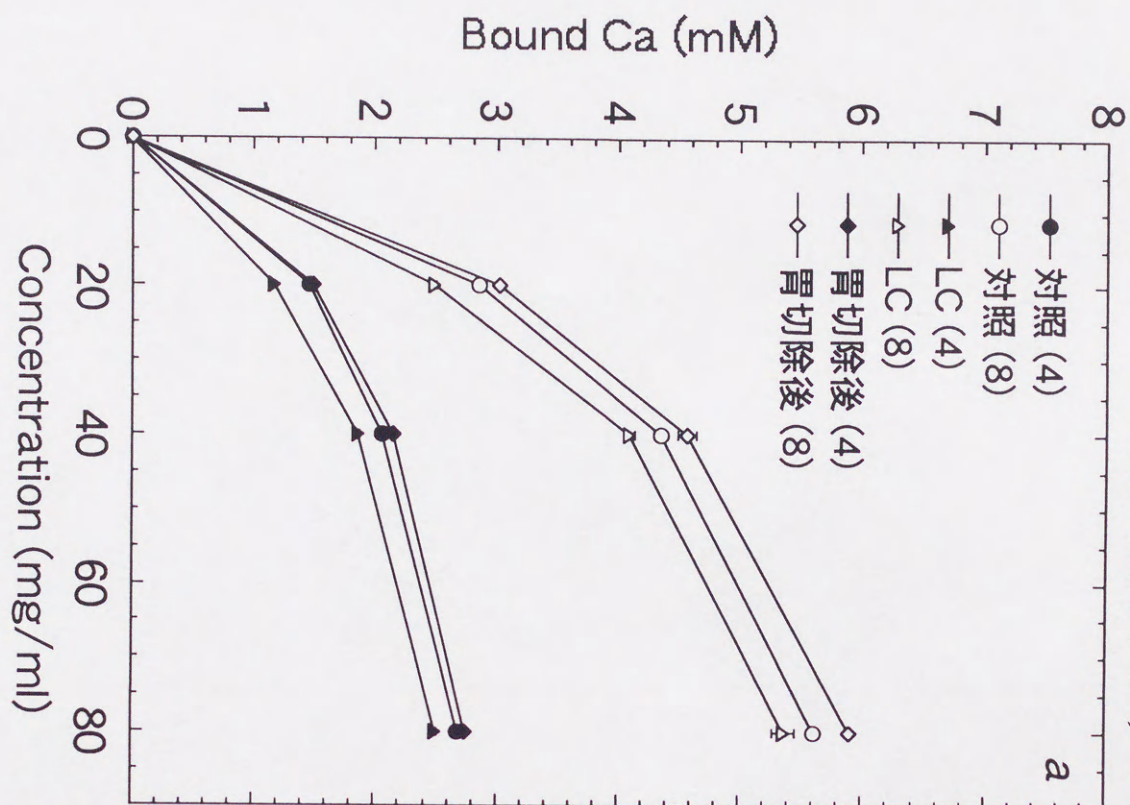


図13：遊離ビリルビンを加えた胆汁酸溶液の
Caイオン捕捉能

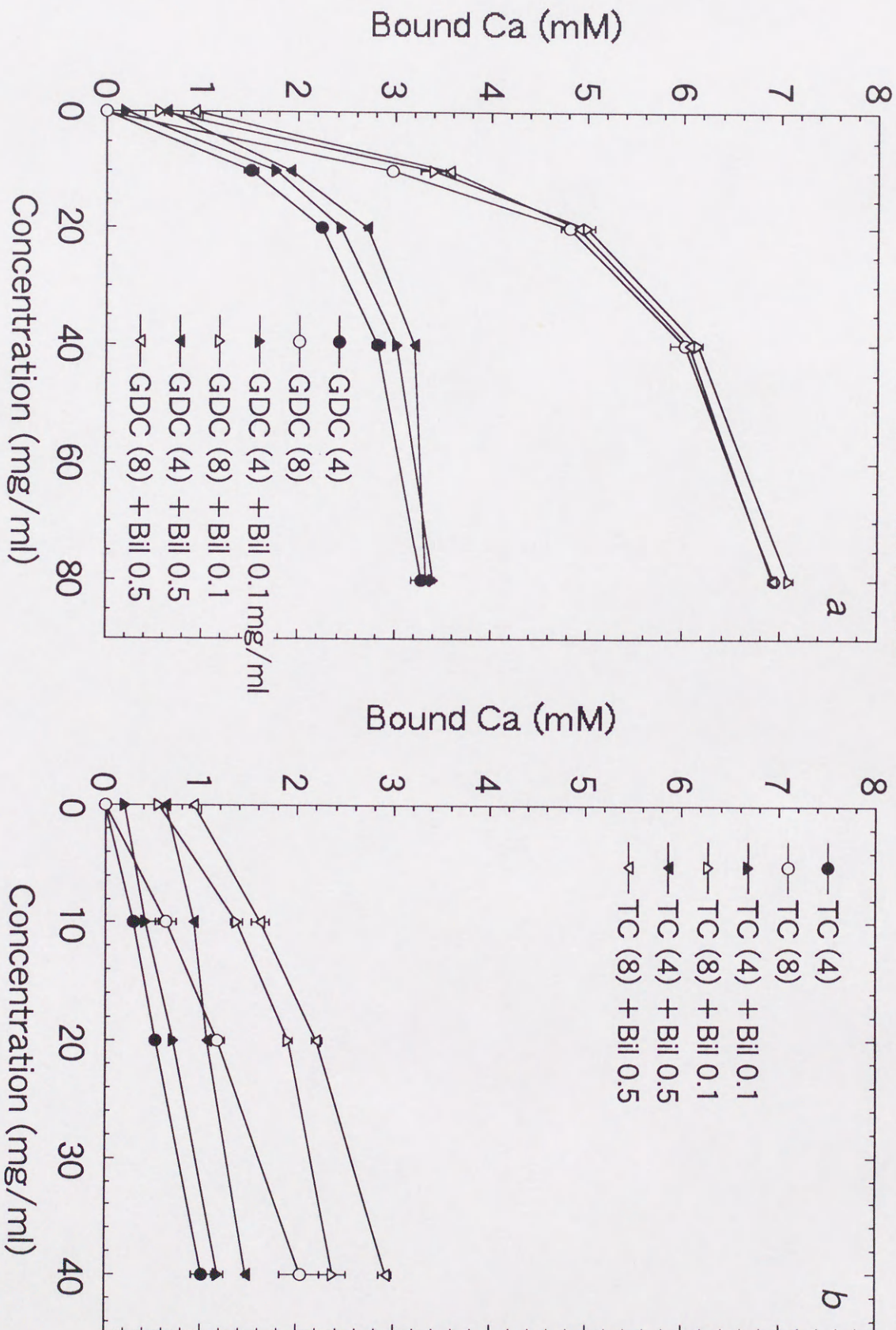


図13 (続き)

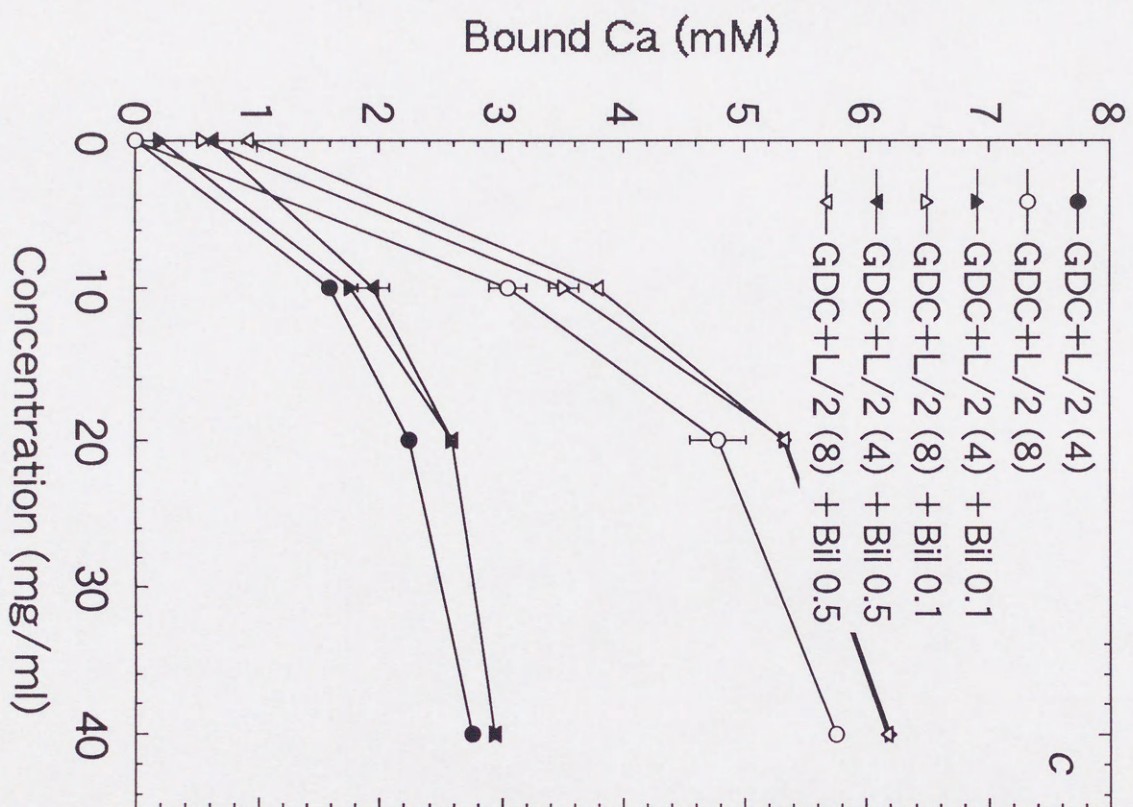


表1：各群の総胆汁酸濃度と胆汁酸画分割合

		対照 (n=13)	肝硬変症 (n=12)	胃切除後 (n=27)
総胆汁酸濃度(mg/ml)		79.50 ± 29.99	38.78 ± 21.75	46.59 ± 24.99
画分(%)	GCA	29.38 ± 8.45	26.96 ± 8.54	30.26 ± 7.21
	GCDCA	30.52 ± 10.43	33.49 ± 8.68	32.68 ± 8.00
	GDCA	9.26 ± 9.52	3.84 ± 4.32	15.92 ± 9.24
	GUDCA	2.32 ± 1.82	1.08 ± 1.05	2.53 ± 2.22
	GLCA	0.15 ± 0.17	0.08 ± 0.16	0.47 ± 0.50
G 計		71.63 ± 9.66	65.45 ± 8.89	81.86 ± 7.38
	TCA	11.57 ± 4.88	14.41 ± 4.53	6.50 ± 3.79
	TCDCa	12.72 ± 5.21	17.78 ± 7.21	7.61 ± 3.93
	TDCA	3.23 ± 2.96	1.88 ± 2.14	2.57 ± 1.74
	TUDCA	0.48 ± 0.54	0.31 ± 0.47	0.26 ± 0.28
	TLCA	0.08 ± 0.11	0.05 ± 0.12	0.07 ± 0.11
T 計		28.08 ± 9.72	34.44 ± 8.91	17.01 ± 8.23
	CA	0.01 ± 0.02	ND	0.70 ± 2.60
	CDCA	trace	0.01 ± 0.02	0.08 ± 0.24
	DCA	0.12 ± 0.15	0.05 ± 0.06	0.09 ± 0.10
	UDCA	0.16 ± 0.19	0.04 ± 0.05	0.25 ± 0.26
	LCA	trace	0.01 ± 0.03	trace
F 計		0.29 ± 0.29	0.10 ± 0.11	1.13 ± 2.58
G/T比		2.55	1.90	4.81

mean ± SD

(G: グリシン抱合型, T: タウリン抱合型, F: 遊離型)

表2：結石種類および再建術式別の総胆汁酸濃度と胆汁酸画分割合

	黒色石 (n=14)			ビ石 (n=9)		コ石 (n=4)		B-I (n=11)	E-G (n=4)	R-Y (n=3)	B-II (n=9)
総胆汁酸濃度(mg/ml)	47.47 ± 24.46			46.94 ± 30.56		42.68 ± 17.46		53.32 ± 22.54	26.07 ± 15.07	64.96 ± 24.15	41.34 ± 27.08
胆汁酸画(%)	GCA	29.15 ± 7.67	29.96 ± 6.13	34.80 ± 7.88	30.23 ± 9.64	26.91 ± 6.35	33.53 ± 6.00	30.69 ± 4.34			
	GCDCa	32.29 ± 9.43	33.29 ± 7.63	32.72 ± 3.40	31.61 ± 5.02	33.78 ± 10.17	24.64 ± 4.98	36.20 ± 9.55			
	GDCA	16.70 ± 10.13	16.04 ± 8.49	12.89 ± 9.40	16.87 ± 10.78	20.93 ± 9.37	15.36 ± 1.11	12.71 ± 8.57			
	GUdCA	2.63 ± 2.01	2.55 ± 2.97	2.17 ± 1.25	2.97 ± 2.51	1.83 ± 1.33	0.90 ± 0.38	2.86 ± 2.42			
	GLCA	0.52 ± 0.58	0.44 ± 0.44	0.37 ± 0.34	0.43 ± 0.45	0.55 ± 0.52	0.38 ± 0.26	0.52 ± 0.65			
	G 計	81.28 ± 8.27	82.28 ± 5.82	82.95 ± 9.03	82.10 ± 9.01	83.99 ± 7.27	74.81 ± 2.25	82.97 ± 5.66			
	TCA	6.10 ± 4.40	7.02 ± 3.01	6.71 ± 3.82	6.32 ± 4.60	4.82 ± 1.79	10.51 ± 1.02	6.13 ± 3.33			
	TCDCa	7.46 ± 4.58	7.59 ± 2.49	8.15 ± 5.05	7.79 ± 4.61	7.09 ± 4.80	9.75 ± 0.40	6.90 ± 3.51			
	TDCA	2.93 ± 1.94	2.52 ± 1.54	1.44 ± 1.06	2.60 ± 2.04	2.69 ± 1.14	4.36 ± 0.80	1.89 ± 1.48			
	TUDCA	0.33 ± 0.32	0.17 ± 0.20	0.19 ± 0.25	0.34 ± 0.35	0.14 ± 0.26	0.19 ± 0.19	0.24 ± 0.20			
胆汁酸画(%)	TLCA	0.10 ± 0.14	0.05 ± 0.08	0.04 ± 0.05	0.06 ± 0.09	0.08 ± 0.07	0.09 ± 0.05	0.08 ± 0.17			
	T 計	16.92 ± 9.64	17.36 ± 6.01	16.53 ± 9.31	17.10 ± 9.53	14.81 ± 6.73	24.91 ± 2.24	15.23 ± 7.66			
	CA	1.26 ± 3.57	0.07 ± 0.18	0.13 ± 0.25	0.36 ± 0.96	0.22 ± 0.26	ND	1.55 ± 4.41			
	CDCA	0.15 ± 0.33	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.04	0.02 ± 0.03	0.46 ± 0.54	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.03			
	DCA	0.12 ± 0.12	0.06 ± 0.08	0.07 ± 0.04	0.07 ± 0.04	0.24 ± 0.17	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.08			
	UDCA	0.26 ± 0.28	0.22 ± 0.28	0.32 ± 0.15	0.34 ± 0.32	0.25 ± 0.29	0.20 ± 0.15	0.16 ± 0.17			
	LCA	0.01 ± 0.02	ND	ND	ND	0.02 ± 0.04	ND	ND			
	F 計	1.79 ± 3.50	0.37 ± 0.36	0.53 ± 0.33	0.79 ± 0.94	1.19 ± 1.03	0.28 ± 0.18	1.80 ± 4.39			
	G/T比	4.80	4.74	5.02	4.80	5.67	3.00	5.45			

mean ± SD (G: グリシン抱合型, T: タウリン抱合型, F: 遊離型)

表3：モデル胆汁酸溶液の構成(%) および G/T比

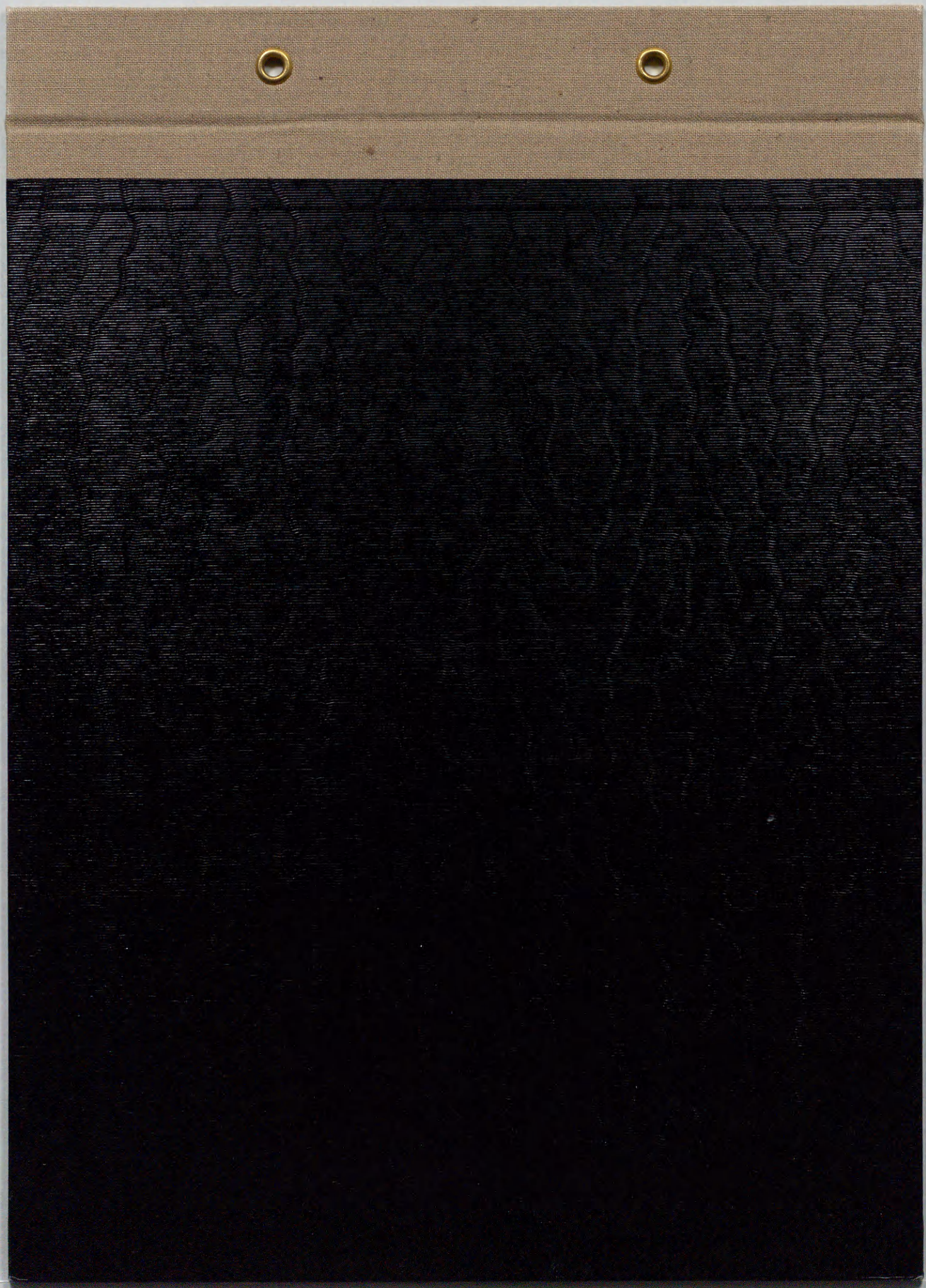
	GC	GCDC	GDC	TC	TCDC	G/T比
対照	30.0	35.0	10.0	12.5	12.5	3
LC	33.3	33.3	—	16.7	16.7	2
胃切除後	33.3	33.3	16.7	8.3	8.3	5

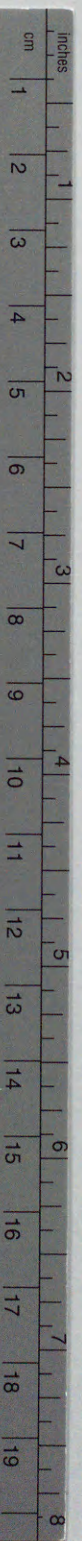
表4：胆汁酸-Ca溶液とビリルビンによる沈殿形成

	ビリルビン濃度 (mg/ml)	胆汁酸濃度(mg/ml)			
		10	20	40	80
GDC (4)	0.1	(-)	(-)	(-)	(-)
GDC (8)		(-)	(-)	(-)	(-)
TC (4)		(-)	(-)	(-)	・
TC (8)		(-)	(-)	(-)	・
GDC+L/2 (4)		(-)	(-)	(-)	・
GDC+L/2 (8)		(++)	(+)	(-)	・
GDC (4)		(+)	(+)	(-)	(-)
GDC (8)		(++)	(++)	(-)	(-)
TC (4)	0.5	(-)	(-)	(-)	・
TC (8)		(++)	(+)	(-)	・
GDC+L/2 (4)		(++)	(+)	(+)	・
GDC+L/2 (8)		(++)	(++)	(++)	・

() : 総Ca濃度

(-) : 沈殿形成せず
 (+) : 遠心後に沈殿形成
 (++) : 混合直後に明らかに沈殿形成





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

